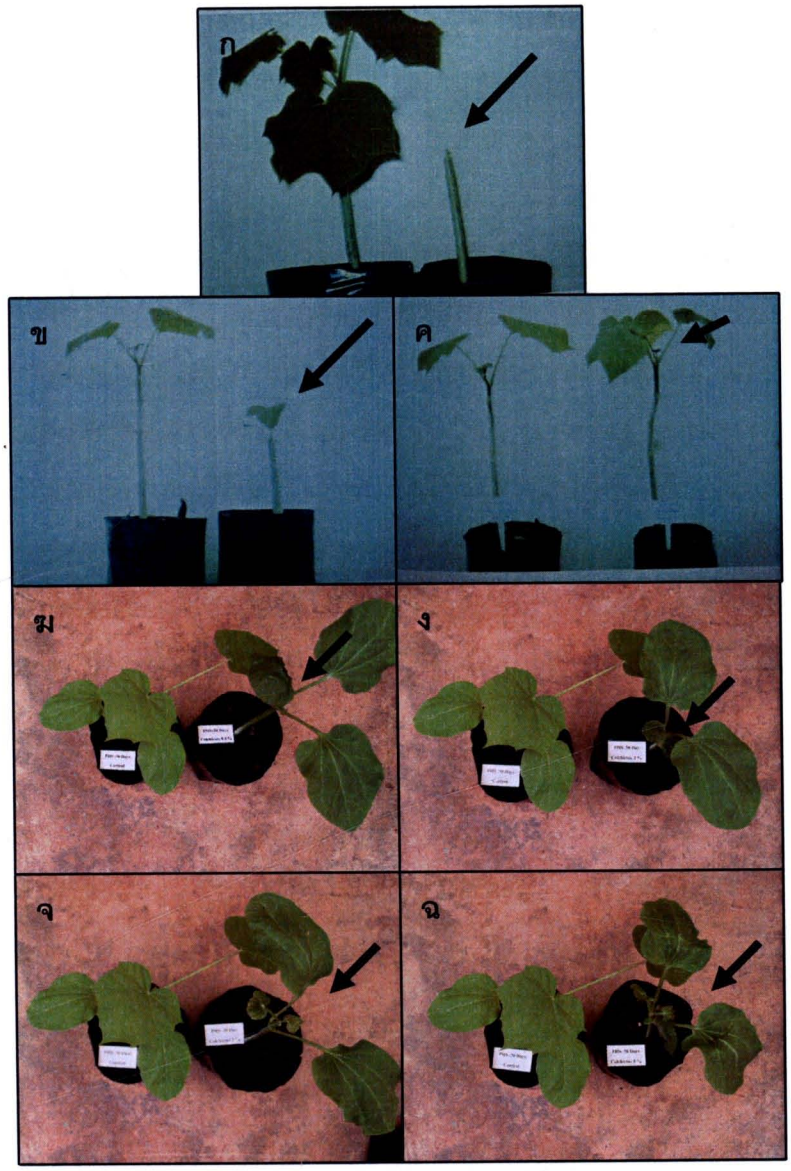
บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลการชักนำพอลิพลอยด์จากต้นอ่อนสบู่ดำ (seedling) สายพันธุ์พิษณุโลก ด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟทาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน

จากการหยดสารเคมีลงบนปลายยอดของต้นอ่อนสบู่ดำ อายุ 9 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า สบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลกที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน มีอัตราการรอดชีวิต 20 % (1 ต้น) และมีผลทำให้เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดเหี่ยวลง และหายไปในที่สุด หลังจากนำต้นที่ทรีตสารลงไปปลูกในแปลงทดลองแล้วเป็นระยะเวลา 7 เดือน สารมารถอยู่รอด มีใบใหม่เกิดขึ้นบริเวณยอดที่ถูกทำลาย และมีการแตกกิ่ง แต่การเจริญเติบโตของต้นที่ทรีตสารจะน้อยกว่าต้นปกติ ส่วนการทรีตด้วยสารคลอโรฟอร์ม มีอัตราการรอดชีวิต 20 % (1 ต้น) และมีผลทำให้เนื้อเยื่อปลายยอดเหี่ยว และหายไป แต่ใบใหม่สามารถเกิดขึ้นบริเวณยอดที่ถูกทำลายได้ และหลังจากย้ายลงปลูกที่แปลงทดลองแล้วอัตราการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกับต้นควบคุม การทรีตด้วยสารเมทานอล ไม่มีผลทำให้การเจริญของยอดผิดปกติไปจากต้นควบคุม (ภาพ 2) และการทรีตด้วยโคลชิซีนความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 5.0 % พบว่า สารโคลชิซีนทุกความเข้มข้นไม่ทำให้เกิดการตายของต้นที่ได้รับการ ทำให้มีอัตราการรอกชีวิต 100 % ในทุกทรีตเม้นต์ และจากการสังเกตลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นที่ทรีตสารในช่วงแรก พบว่า สารโคลชิซีนมีผลทำให้ใบบริเวณปลายยอดเจริญเพียงซีกเดียว และมีลักษณะบิดเบี้ยว ทำให้มีขนาดเล็กกว่าต้นปกติ (ภาพ 2)



ภาพ 2 แสดงลักษณะของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยแอลฟา โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ที่ความเข้มข้นต่างๆ

หมายเหตุ: ก = สบู่ดำที่ทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน ในรูปของสารละลายอิ่มตัว (ลูกศรชี้) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม

ข = สบู่ดำที่ทรีตด้วยคลอโรฟอร์มเข้มข้น 99.5 % (ลูกศรชี้) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม

ค = สบู่ดำที่ทรีตด้วยเมทานอลเข้มข้น 99.9 % (ลูกศรชี้) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม

ฆ = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 0.5% (ลูกศรชี้) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม

ง = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 1.0% (ลูกศรชี้) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม

จ = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 2.0 % (ลูกศรชี้) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม

ฉ = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 5.0 % (ลูกศรชี้) เปรียบเทียบกับต้นควบคุม

ผลการชักนำพอลิพลอยด์จากแคลลัสสบู่ดำโดยสารโคลชิซีน

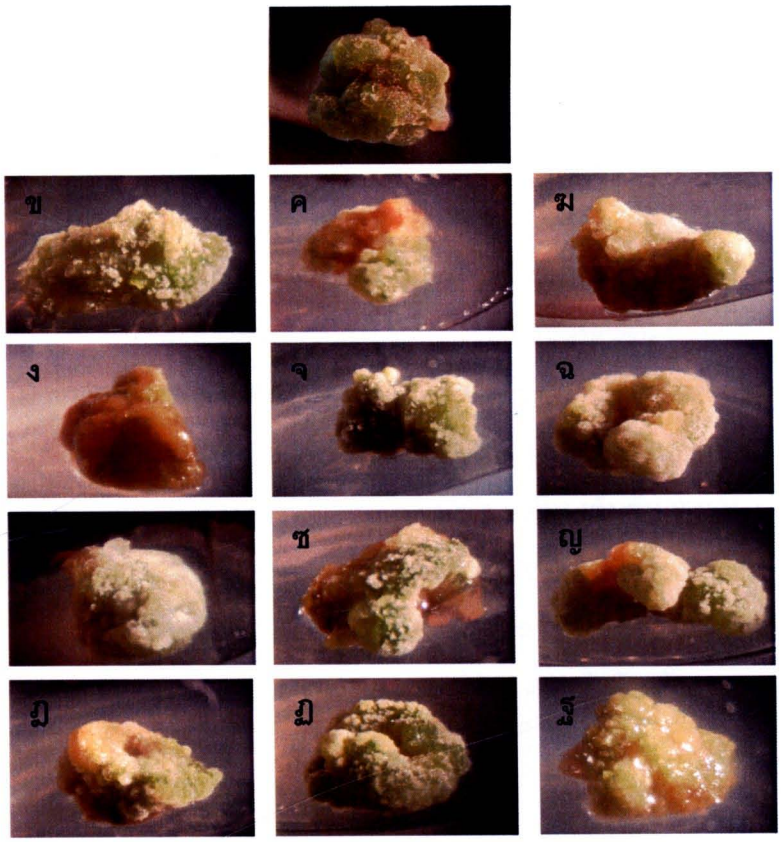
แคลลัสสบู่ดำอายุ 8 สัปดาห์ ที่นำมาแช่ในโคลชิซีนในความเข้มข้น 0 0.025 0.05 0.1 และ 0.2 % เป็นระยะเวลา 3 5 และ 7 วัน แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เสริมด้วยฮอร์โมน BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 4 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสปกติมีสีเขียว แต่แคลลัสที่ทรีตด้วยโคลชิซีนมีลักษณะสีเหลือง สีเขียวอ่อน และสีน้ำตาล (ภาพ 3) โดยแคลลัสที่รอดหลังการทรีตสารจะมีสีเหลืองของแคลลัสที่เวลาการ ทรีต 3 5 และ 7 วัน ที่โคลชิซีนความเข้มข้นต่างๆ มีค่าระหว่าง 4.17-45.83 8.33-79.17 และ 16.67-50.00 % ตามลำดับ (ตาราง 1) ซึ่งน้อยกว่าแคลลัสควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตาราง 1 แสดงอัตราการรอดชีวิตของแคลลัสสบู่ดำ ที่แช่ในสารละลายโคลชิซีนที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ อายุ 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นโคลชิซีน (%)	อัตราการรอดชีวิต (%)		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
0.000	100.00±0.00[a]	100.00±0.00[a]	100.00± 0.00[a]
0.025	12.50±7.22[c]	8.33± 4.17[e]	25.00± 7.22[c]
0.050	4.17*[c]	58.33±11.02[c]	16.67±4.17[c]
0.100	4.17*[c]	33.33±4.17[d]	50.00±0.00[b]
0.200	45.83±8.33[b]	79.17±4.17[b]	20.83±11.02[c]

* = การทดลองบางซ้ำเกิดการตายทั้งหมด, mean±SE

เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$, n = 8)



ภาพ 3 แสดงแคลลัสของสบู่ดำปกติและสบู่ดำที่ผ่านการทรีตสารโคลชิซีน

หมายเหตุ: ก = แคลลัสของสบู่ดำ ที่ชักนำจากใบคู่ที่ 3 และ 4 ของสบู่ดำสายพันธุ์ พิษณุโลก ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 6 สัปดาห์

ข-ฆ = แคลลัสที่ผ่านการทรีตสารโคลชิซีน 0.025 % ระยะเวลา 3, 5 และ 7 วัน อายุ 4 สัปดาห์

ง-ฉ = แคลลัสที่ผ่านการทรีตสารโคลชิซีน 0.050 % ระยะเวลา 3, 5 และ 7 วัน อายุ 4 สัปดาห์

ซ-ญ = แคลลัสที่ผ่านการทรีตสารโคลชิซีน 0.100 % ระยะเวลา 3, 5 และ 7 วัน อายุ 4 สัปดาห์

ฎ-ฐ = แคลลัสที่ผ่านการทรีตสารโคลชิซีน 0.200 % ระยะเวลา 3, 5 และ 7 วัน อายุ 4 สัปดาห์

ระดับพลอยดีของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลกที่ทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และ โคลซิซีน

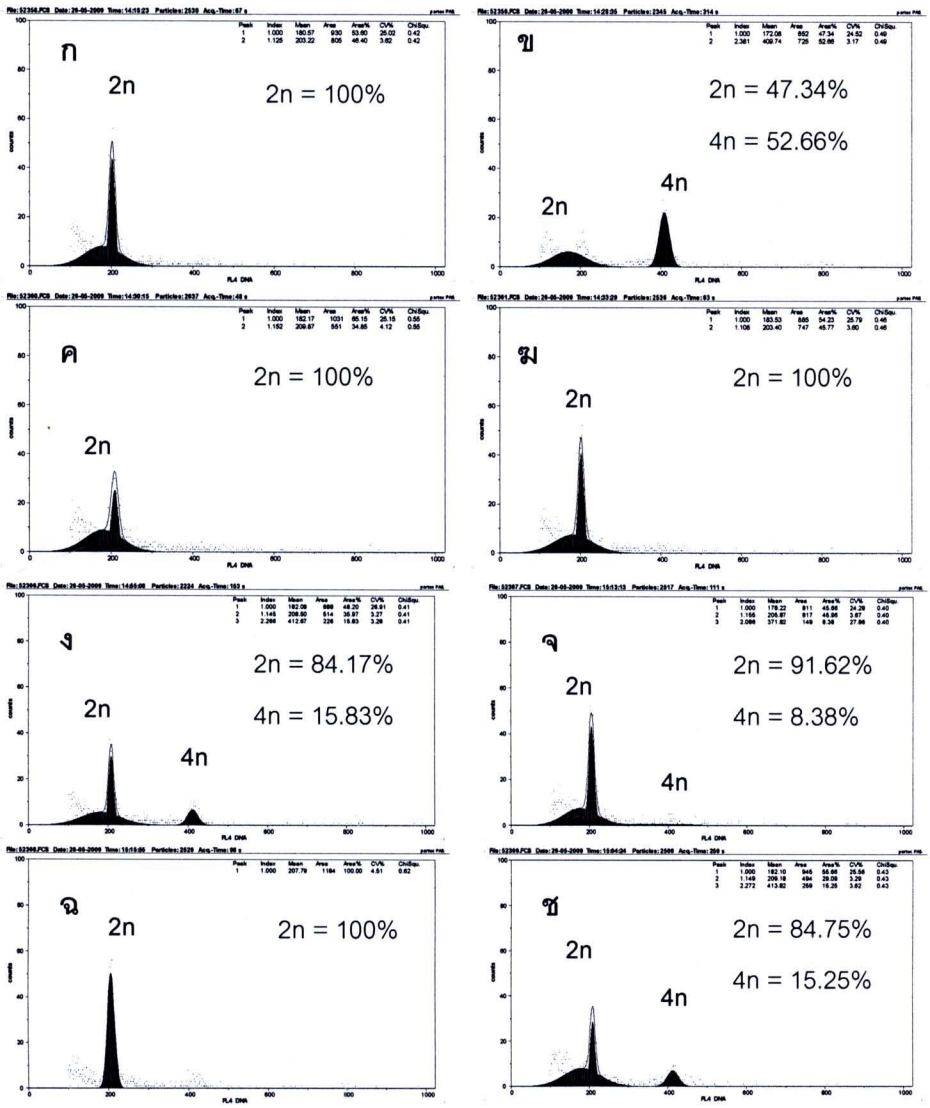
1. ผลการวิเคราะห์ระดับพลอยดีด้วยเครื่อง Flow Cytometry (Partec®)

1.1 ผลการวิเคราะห์ระดับพลอยดีของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน ด้วยเครื่อง Flow Cytometry (Partec ®)

จากการนำชิ้นส่วนใบอ่อน ของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลกต้นควบคุม และต้นที่ทรีตด้วยสาร แอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน ที่มีอายุ 1 ปี 6 เดือน มาวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอด้วยโฟลไซโทเมทรี พบว่า การตรวจวัดระดับพลอยดีของสบู่ดำต้นควบคุม พบตำแหน่งของ peak แสดงอยู่ที่ channel 200 แสดงว่ามีชุดโครโมโซมเป็น 2n เท่ากับ 100 % เช่นเดียวกับการทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน เข้มข้น 2.0 % พบตำแหน่งของ peak แสดงอยู่ที่ channel 200 แสดงว่ามีชุดโครโมโซมเป็น 2n ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน และโคลซิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 และ 5.0 % สามารถชักนำ มิกโซพลอย์ (2n และ 4n) ได้ โดยมี 4n เท่ากับ 52.66 15.83 8.38 และ 15.25 % ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 2 และภาพ 4

ตาราง 2 แสดงความแปรผันของชุดโครโมโซมของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ระดับพลอยดี (%)	
		2n	4n
control	-	100	-
alpha-bromonaphthalene	อิ่มตัว	47.44	52.66
chloroform	99.5	100	-
methanol	99.9	100	-
colchicine	0.5	84.17	15.83
	1.0	91.62	8.38
	2.0	100.00	-
	5.0	84.75	15.25



ภาพ 4 แสดง Histogram **ของ** relative nuclear DNA content **ของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก** (*J. curcas* L.) **ดิพลอยด์** (2n) **และ มิกโซพลอยด์** (2n, 44)

หมายเหตุ: ก = สบู่ดำต้นควบคุม

ข = ต้นที่ทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน

ค = ต้นที่ทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม

ฆ = ต้นที่ทรีตด้วยเมทานอล

ง = ต้นที่ทรีตด้วยโคลชิซีน 0.5 %

จ = ต้นที่ทรีตด้วยโคลชิซีน 1.0 %

ฉ = ต้นที่ทรีตด้วยโคลชิซีน 2.0 %

ช = ต้นที่ทรีตด้วยโคลชิซีน 5.0 %

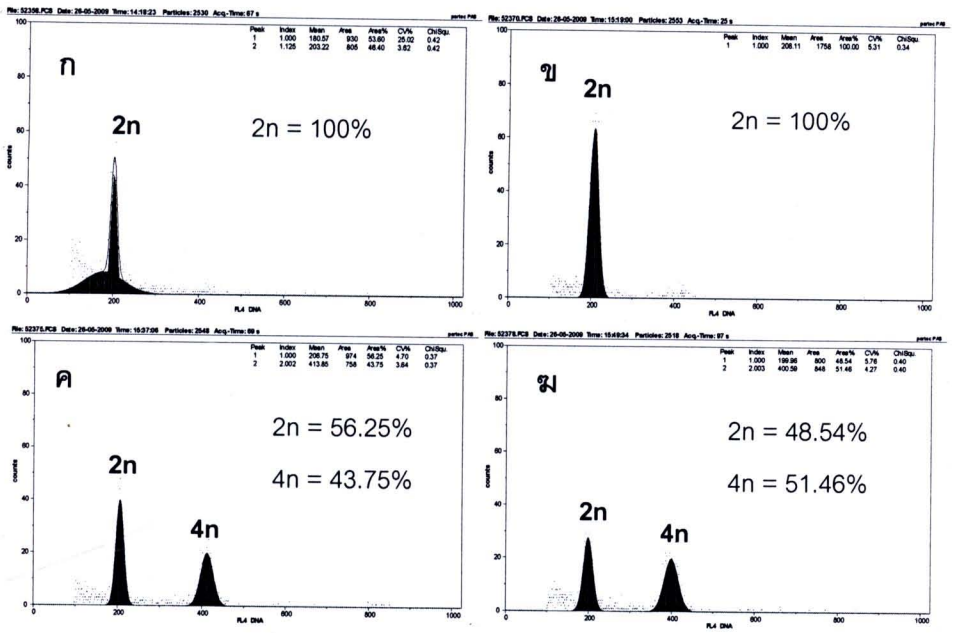
1.2 ผลการวิเคราะห์ระดับพลอยดีของแคลลัสที่ทรีตด้วยโคลชิซีนที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ ด้วยเครื่อง Flow Cytometry (Partec ®)

ผลการตรวจระดับพลอยดี (Ploidy level) ของแคลลัสที่ทรีตด้วยโคลชิซีนอายุ 16 สัปดาห์ ด้วย Flow Cytometry พบว่าการวิเคราะห์ระดับพลอยดีของสบู่ดำดิพลอยด์ที่เป็นต้นควบคุมพบตำแหน่งของ peak แสดงอยู่ที่ channel 200 (ภาพ 5) ส่วนแคลลัสที่ชักนำด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 0.025 % ระยะเวลา 3 5 และ 7 วัน แสดง peak ใน channel 200 เช่นกัน จึงสรุปได้ว่าโคลชิซีนเข้มข้น 0.025 % ระยะเวลา 3 5 และ 7 วัน ไม่สามารถชักนำพอลิพลอยด์ของแคลลัสสบู่ดำได้ ส่วนการแช่แคลลัสในสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.05 % เป็นระยะเวลา 5 และ 7 วัน และการแช่แคลลัสในสารโคลชิซีน 0.1 และ 0.2 % เป็นระยะเวลา 3 5 และ 7 วัน พบ peak ที่ channel 200 และ channel 400 ซึ่งแสดงว่าเป็นมิกโซพลอยด์ (mixoploid) (ตาราง 3)

ตาราง 3 แสดงความแปรผันของชุดโครโมโซมของแคลลัสสบู่ดำที่ผ่านการทรีตโคลชิซีน ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 3 5 และ 7 วัน

ความเข้มข้นโคลชิซีน (%)	ระยะเวลาในการแช่ (วัน)	ระดับพลอยดี (%)	
		2n	4n
0	3	100.00	-
	5	100.00	-
	7	100.00	-
0.025	3	100.00	-
	5	100.00	-
	7	100.00	-
0.05	3	0	0
	5	95.12	4.88
	7	70.02	29.98
0.1	3	56.25	43.75
	5	92.58	7.42
	7	84.41	15.59
0.2	3	48.54	51.46
	5	82.80	17.20
	7	83.66	16.34

0 = แคลลัสเกิดการตายก่อนนำไปวิเคราะห์



ภาพ 5 แสดง Histogram **ของ** relative nuclear DNA content **ของสบู่ดำ** (*J. curcas* L.) **ดิพลอยด์** (2n) **และ มิกโซพลอยด์** (2n, 4n)

หมายเหตุ: ก = สบู่ดำต้นควบคุม

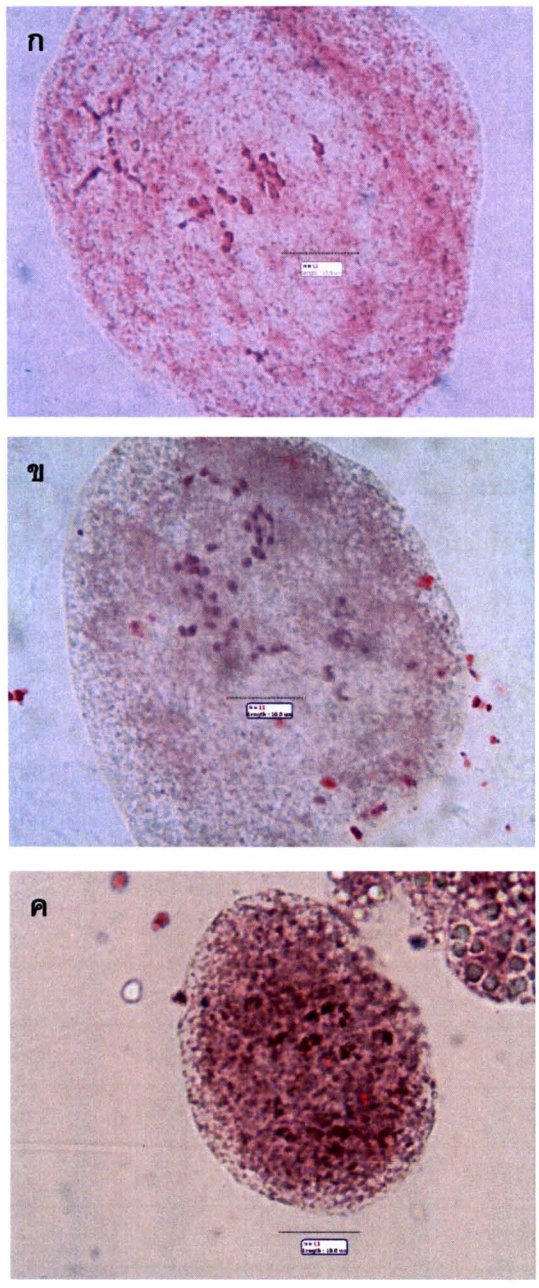
ข = แคลลัสสบู่ที่ชักนำด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 0.025% ระยะเวลา 3 วัน

ค = แคลลัสสบู่ที่ชักนำด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 0.1% ระยะเวลา 3 วัน

ฆ = แคลลัสสบู่ที่ชักนำด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 0.2% ระยะเวลา 3 วัน

2. ผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมจากดอก โดยเทคนิค Smear

จากการตรวจนับจำนวนโครโมโซมจากดอกของสบู่ดำต้นควบคุมสายพันธุ์พิษณุโลก และต้นที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน พบว่า จำนวนโครโมโซมของต้นควบคุมทั้ง มีโครโมโซมเท่ากับ 2n = 2x = 22 เช่นเดียวกับการทรีตด้วยสาร คลอโรฟอร์ เมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 2.0 % ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน และโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 และ 5.0 % มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 2n = 2x = 22 และ 2n = 4x = 44 ดังแสดงในภาพ 6



ภาพ 6 แสดงไมโครสปอโรไซต์ ระยะเมทาเฟส I ของสบู่ดำ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า บาร์ = 10µm

หมายเหตุ: ก = สบู่ดำต้นควบคุมมีโครโมโซม 2n = 22, 11 ไบวาเลนท์ (bivalent) = 5 ringII + 6 rodII

ข = ต้นที่ทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน (2n = 4x = 44)

ค = ต้นที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 5.0 % (2n = 4x = 44)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของสบู่ดำที่ผ่านการทรีตสารแอลฟา-โบรโมแนฟทาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน

1. ผลของแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ต่อความสูงของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก

การทรีตสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน, คลอโรฟอร์ม, เมทานอล และโคลชิซีน พบว่า ในระยะเวลา 5 เดือน 1 ปี และ 2 ปี หลังการทรีตสาร สบู่ดำต้นควบคุมมีความสูงของต้น 71.00±6.56 99.33±11.84 และ 144.67±14.44 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนการทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน มีผลทำให้ความสูงของต้นน้อยกว่าต้นควบคุม การทรีตด้วยสารคลอโรฟอร์ม และเมทานอล จะมีผลทำให้ความสูงของต้นสูงกว่าต้นควบคุมในปีที่ 2 และการทรีตด้วยโคลชิซีนที่ความเข้มข้นต่างๆ มีความสูงของต้นไม่มีความแตกต่างกับต้นควบคุม ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 4 แสดงความสูงของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน, คลอโรฟอร์ม, เมทานอล และโคลชิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ความสูงต้น (เซนติเมตร)		
		5 เดือน	1 ปี	2 ปี
control	-	71.00±6.56	99.33±11.84	144.67±14.44
alpha-bromonaphthalene*	อิ่มตัว	22.00	70.00	105.00
chloroform*	99.5	74.00	110.00	175.00
methanol	99.9	63.33±6.64	106.27±6.33	167.67±12.99
colchicine	0.5	89.90±5.00	103.20±4.28	131.90±10.12
	1.0	90.53±4.25	103.90±2.91	132.63±8.04
	2.0	91.87±12.56	105.27±13.15	135.10±21.04
	5.0	87.93±5.15	100.87±4.36	128.93±10.25

n = 3, mean±SE

* มี 1 ต้น

2. ผลของแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ต่อขนาดใบและความยาวของก้านใบ ของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก

การศึกษาขนาดของใบ พบว่า ความกว้างของใบสบู่ดำต้นควบคุม เท่ากับ 13.00±0.20 เซนติเมตร ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน มีขนาดความกว้างของใบ 12.75±0.14 เซนติเมตร การทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม มีความกว้างของใบ เท่ากับ 12.75±0.32 เซนติเมตร และการทรีตด้วยโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 5.0 % มีขนาดกว้างของใบอยู่ในช่วง 12.30±0.16 - 13.08±0.25 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ส่วนการทรีตด้วยเมทานอล มีความกว้างของใบ 13.88±0.31 เซนติเมตร กว้างกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 5

ความยาวของใบของต้นควบคุม เท่ากับ 13.13±0.31 เซนติเมตร ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน มีขนาดความยาวของใบ 11.75±0.48 เซนติเมตร การทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม มีความยาวของใบ เท่ากับ 12.00±0.20 เซนติเมตร และการทรีตด้วยโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 และ 1.0 % มีขนาดยาวของใบ เท่ากับ 12.13±0.28 และ 12.08±0.22 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ส่วนการทรีตด้วยเมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 2.0 และ 5.0 % มีความกว้างของใบ 12.75±0.14 12.75±0.14 และ 12.68±0.15 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 5

ความยาวของก้านใบของต้นควบคุม เท่ากับ 13.50±0.35 เซนติเมตร ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน มีขนาดความยาวของก้านใบ 15.38±0.55 เซนติเมตร ซึ่งยาวกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม มีความยาวของใบ เท่ากับ 13.63±0.31 เซนติเมตร การทรีตด้วยเมทานอล มีความยาวของก้านใบ 13.00±0.61 เซนติเมตร และการทรีตด้วยโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 5.0 % มีขนาดยาวของก้านใบ อยู่ในช่วง 13.43±0.36 - 13.63±0.38 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ดังแสดงในตาราง 5

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ตาราง 5 แสดงขนาดใบ และความยาวของก้านใบ ของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ขนาดใบ (เซนติเมตร)		ความยาวของก้านใบ (เซนติเมตร)
		กว้าง	ยาว	
control	-	13.00±0.20^{b}	13.13±0.31^{a}	13.50±0.35^{b}
alpha-bromonaphthalene	อิ่มตัว	12.75±0.14^{b}	11.75±0.48^{c}	15.38±0.55^{a}
chloroform	99.5	12.75±0.32^{b}	12.00±0.20^{bc}	13.63±0.31^{b}
methanol	99.9	13.88±0.31^{a}	12.75±0.14^{ab}	13.00±0.61^{b}
colchicine	0.5	12.75±0.14^{b}	12.13±0.28^{bc}	13.63±0.38^{b}
	1.0	12.75±0.32^{b}	12.08±0.22^{bc}	13.63±0.31^{b}
	2.0	13.08±0.25^{b}	12.75±0.14^{ab}	13.43±0.36^{b}
	5.0	12.30±0.16^{b}	12.68±0.15^{ab}	13.45±0.33^{b}

n = 5, mean±SE

เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$)

3. ผลของแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ต่อขนาด และความหนาแน่นของปากใบ ของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก

ความหนาแน่นปากใบของสบู่ดำสายต้นควบคุมเท่ากับ 450±33.0 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน มีความหนาแน่นของปากใบ 220±3.5 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร การทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม มีความหนาแน่นของปากใบ 230±4.5 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร การทรีตในสายพันธุ์นครราชสีมา มีความหนาแน่นของปากใบ 183±1.5 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร และการทรีตด้วยโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 และ5.0 % มีความหนาแน่นของปากใบ เท่ากับ 261±1.5 110±2.0 และ 162±5.5 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยโคลชิซีน เข้มข้น 2.0 % มีความหนาแน่นปากใบไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ดังแสดงในตาราง 6 และภาพ

เมื่อศึกษาขนาดความกว้างเฉลี่ยของปากใบ พบว่า สบู่ดำต้นควบคุมมีขนาดความกว้างของปากใบ 20.4±0.36 ไมโครเมตร การทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน เมทานอล และโคลชิซีนเข้มข้น 1.0 % มีความกว้างของปากใบ (23.3±0.22 23.5±0.50 และ 27.9±0.85 ไมโครเมตร ตามลำดับ) ใหญ่กว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม และ โคลชิซีนเข้มข้น 0.5 และ 5.0 % มีความกว้างของปากใบ (21.4±1.21 20.4±0.00 และ 22.9±0.05 ไมโครเมตร ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกับต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 2.0 % มีความกว้างของปากใบเล็กกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 6

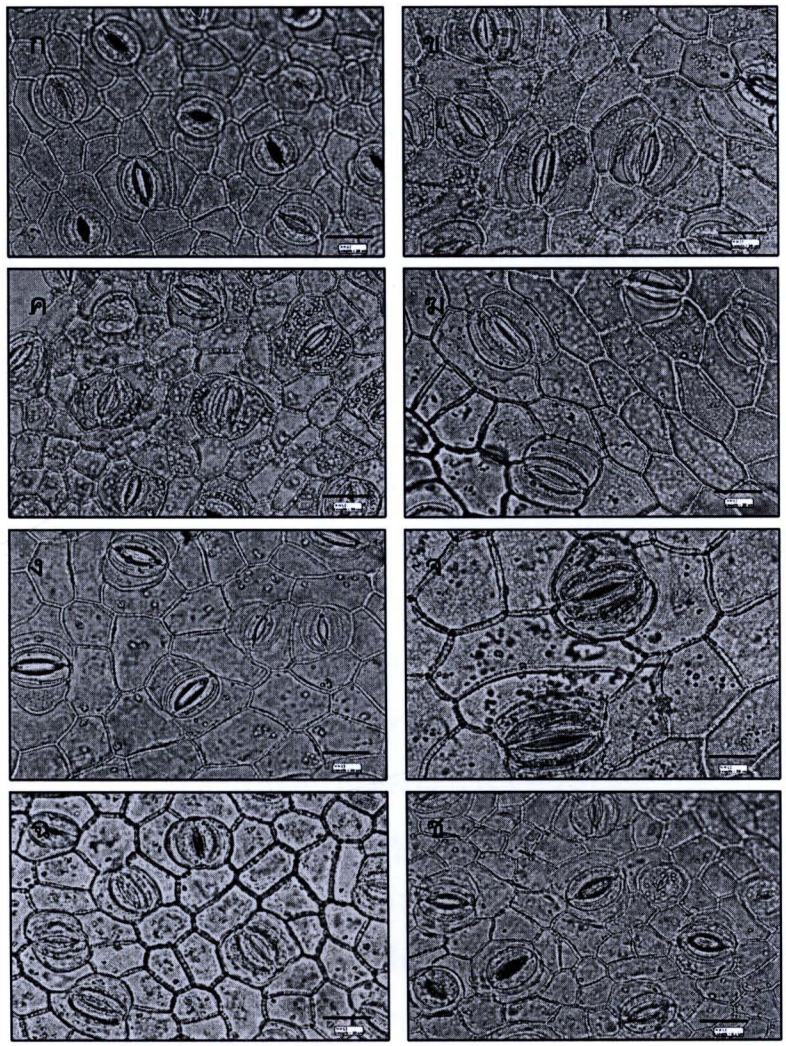
ขนาดความยาวปากใบของสบู่ดำต้นควบคุม เท่ากับ 25.9±1.04 ไมโครเมตร ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟทาลีน และโคลชิซีนเข้มข้น 0.5 1.0 และ 5.0 % มีความยาวปากใบ (35.2±1.44 29.7±0.90 40.8±0.05 และ 29.7±0.95 ไมโครเมตร ตามลำดับ) ยาวกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม, เมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 2.0 % มีความยาวปากใบ (28.0±0.87 28.9±0.67 และ 23.9±0.45 ไมโครเมตร ตามลำดับ) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ดังแสดงในตาราง 6

ตาราง 6 แสดงขนาด และความหนาแน่นของปากใบสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ความหนาแน่นปากใบ* (ปากใบ/มม^2)	ขนาดปากใบ** (ไมโครเมตร)	
			กว้าง	ยาว
control	-	450±33.0^{a}	20.4±0.36^{c}	25.9±1.04^{de}
alpha-bromonaphthalene	อิ่มตัว	220±3.5^{bc}	23.3±0.22^{b}	35.2±1.44^{b}
chloroform	99.5	230±4.5^{b}	21.4±1.21^{bc}	28.0±0.87^{cd}
methanol	99.9	183±1.5^{cd}	23.5±0.50^{b}	28.9±0.67^{cd}
colchicine	0.5	261±1.5^{b}	20.4±0.00^{c}	29.7±0.90^{c}
	1.0	110±2.0^{e}	27.9±0.85^{a}	40.8±0.05^{a}
	2.0	432±3.5^{a}	17.8±1.70^{d}	23.9±0.45^{e}
	5.0	162±5.5^{d}	22.9±0.05^{bc}	29.7±0.95^{c}

*n = 3, ** n = 10, mean±SE

เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$)



ภาพ 7 แสดงขนาด และความหนาแน่นของเซลล์ปากใบของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่กำลังขยาย 400 เท่า บาร์ = 20 µm

หมายเหตุ: ก= ต้นควบคุม

ข = สบู่ดำที่ทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน ในรูปของสารละลายอิ่มตัว

ค = สบู่ดำที่ทรีตด้วยคลอโรฟอร์มเข้มข้น 99.5 %

ฆ = สบู่ดำที่ทรีตด้วยเมทานอลเข้มข้น 99.9 %

ง = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 0.5%

จ = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 1.0%

ฉ = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 2.0%

ช = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 5.0%

4. ผลของแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ ของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก

จากการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ พบว่า สบู่ดำต้นควบคุมมีปริมาณคลอโณฟิลล์ เอ 0.47±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน และเมทานอล มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (0.40±0.018 และ 0.36±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ) น้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม และโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 5.0 % มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (0.46±0.01 0.50±0.00 0.50±0.01 0.49±0.01 และ 0.48±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกับต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 7)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ของสบู่ดำต้นควบคุม 0.43±0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด การ ทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน เมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 และ 1.0 % มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (0.26±0.07 0.12±0.01 0.29±0.01 และ0.29±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ) น้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตคลอโรฟอร์ม และโคลชิซีน เข้มข้น 2.0 และ 5.0 % ปริมาณคลอโรฟิลล์บี (0.49±0.01 0.36±0.01 และ 0.45±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกับต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 7)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดทั้งหมดของสบู่ดำต้นควบคุม 0.90±0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด การทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม และโคลชิซีน เข้มข้น 5.0 % มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (0.95±0.01 และ 0.96±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ) มากกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 2.0 % มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (0.84±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน, เมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 และ 1.0 % มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (0.66±0.06 0.49±0.01 และ 0.75±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ) น้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 7)

ตาราง 7 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ ของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น	ปริมาณคลอโรฟิลล์		
	(%)	เอ	บี	ทั้งหมด
control	-	0.47±0.01^{a}	0.43±0.03^{ab}	0.90±0.03^{b}
alpha-bromonaphthalene	อิ่มตัว	0.40±0.02^{b}	0.26±0.07^{c}	0.66±0.06^{d}
chloroform	99.5	0.46±0.01^{a}	0.49±0.01^{a}	0.95±0.01^{a}
methanol	99.9	0.36±0.01^{b}	0.12±0.01^{d}	0.49±0.01^{e}
colchicine	0.5	0.50±0.00^{a}	0.29±0.01^{c}	0.75±0.01^{cd}
	1.0	0.50±0.01^{a}	0.29±0.00^{c}	0.75±0.01^{cd}
	2.0	0.49±0.01^{a}	0.36±0.01^{bc}	0.84±0.00^{bc}
	5.0	0.48±0.01^{a}	0.45±0.01^{a}	0.96±0.01^{a}

n = 3, mean±SE

เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$)

5. ผลของแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ต่อจำนวนดอกของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก

จากการศึกษาจำนวนดอกทั้งหมด พบว่า ต้นควบคุมมีจำนวนดอกทั้งหมด 4672±327.0 ดอกต่อต้น ดังแสดงในตาราง 8 ส่วนการทรีตด้วยสารเคมี มีผลทำให้จำนวนดอกตัวเมีย น้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทรีตด้วยโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 % มีจำนวนดอกทั้งหมด 4088±144.5 ดอกต่อต้น ไม่แตกต่างจากต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 1.0 2.0 และ 5.0 % มีจำนวนดอกทั้งหมดน้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอัตราส่วนระหว่างดอกตัวเมียกับดอกตัวผู้ คือ 1 ต่อ 13 ไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตาราง 8

ตาราง 8 แสดงจำนวนดอก ของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	จำนวนดอก (ดอก/ต้น)	ดอกตัวเมีย : ดอกตัวผู้
control	-	4672±327.0[a]	1:13.1
alpha-bromonaphthalene	อิ่มตัว	482±107.0[d]	1:13.0
chloroform	99.5	3610±258.0[b]	1:13.0
methanol	99.9	1425±155.0[c]	1:13.0
colchicine	0.5	4088±144.5[ab]	1:13.0
	1.0	1732±198.5[c]	1:13.1
	2.0	3351±138.5[b]	1:13.1
	5.0	657±216.8[d]	1:13.1

n = 2, mean±SE

เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$)

6. ผลของแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ต่อความมีชีวิตและขนาดของละอองเรณู ของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก

ความมีชีวิตของละอองเรณู ของต้นควบคุม เท่ากับ 93.44±0.59 % การทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 และ2.0 % มีความสมบูรร์พันธุ์ (91.32±1.51 91.28±0.83 92.24±0.47 92.78±0.77 และ 90.70±0.63 % ตามลำดับ) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน และโคลชิซีน เข้มข้น 5.0 % มีผลทำให้ความสมบูรณ์พันธุ์ (89.81±0.73 และ 89.22±1.32 % ตามลำดับ) น้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตาราง 9

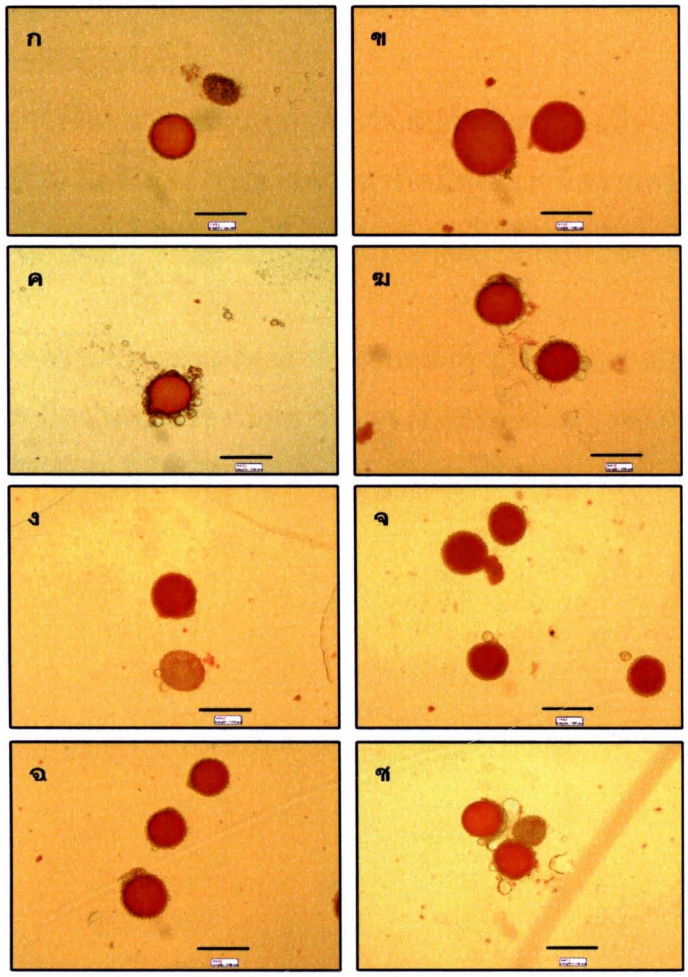
จากการศึกษาขนาดของละอองเรณูของสบู่ดำ พบว่า ต้นควบคุมมีขนาดของละอองเรณู 87.5±1.58 ไมโครเมตร การทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน และโคลชิซีน เข้มข้น 2.0 % มีขนาดละอองเรณู (119.5±5.04 และ 96.2±0.52 ไมโครเมตร ตามลำดับ) ใหญ่กว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 และ 5.0 % มีขนาดละอองเรณู (89.0±2.28 90.9±2.22 89.6±1.97 95.2±2.02 และ 91.8±1.65 ไมโครเมตร ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกับต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 9 และภาพ 8

ตาราง 9 แสดงความมีชีวิต และขนาดของละอองเรณู ของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ความมีชีวิต* (%)	ขนาดละอองเรณู** (ไมโครเมตร)
control	-	93.44±0.59^{a}	87.5±1.58^{c}
alpha-bromonaphthalene	อิ่มตัว	89.81±0.73^{bc}	119.5±5.04^{a}
chloroform	99.5	91.32±1.51a^{abc}	89.0±2.28^{bc}
methanol	99.9	91.28±0.83^{abc}	90.9±2.22^{bc}
colchicine	0.5	92.24±0.47^{abc}	89.6±1.97^{bc}
	1.0	92.78±0.77^{ab}	95.2±2.02^{bc}
	2.0	90.70±0.63^{abc}	96.2±0.52^{b}
	5.0	89.22±1.32^{c}	91.8±1.65^{bc}

*n = 3, **n = 10, mean±SE

เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$)



ภาพ 8 แสดงลักษณะ และขนาดของละอองเรณู ของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วย แอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ที่กำลังขยาย 100 เท่า บาร์ = 100 µm

หมายเหตุ: ก = ต้นควบคุม

ข = สบู่ดำที่ทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน ในรูปของสารละลายอิ่มตัว

ค = สบู่ดำที่ทรีตด้วยคลอโรฟอร์มเข้มข้น 99.5 %

ฆ = สบู่ดำที่ทรีตด้วยเมทานอลเข้มข้น 99.9 %

ง = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 0.5%

จ = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 1.0%

ฉ = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 2.0%

ช = สบู่ดำที่ทรีตด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 5.0%

7. ผลของแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ต่อขนาดเมล็ดของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก

จากการวัดขนาดเมล็ดสบู่ดำ พบว่า สบู่ดำต้นควบคุมมีขนาดความกว้างของเมล็ดเท่ากับ 10.81±0.39 มิลลิเมตร การทรีตด้วยสารเคมีทั้งหมด มีความกว้างของเมล็ด อยู่ในช่วง 10.97±0.33 - 11.67±0.09 มิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ดังแสดงในตาราง 10

ขนาดความยาวของเมล็ดของต้นควบคุม เท่ากับ 17.23±0.20 มิลลิเมตร การทรีตด้วยสารเคมีทั้งหมด มีความยาวของเมล็ด อยู่ในช่วง 16.94±0.09 - 18.06±0.35 มิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ดังแสดงในตาราง 10

ตาราง 10 แสดงขนาดเมล็ดของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ขนาดเมล็ด* (มิลลิเมตร)	
		ความกว้างเมล็ด	ความยาวเมล็ด
control	-	10.81±0.39[a]	17.23±0.20[a]
alpha-bromonaphthalene	อิ่มตัว	11.03±0.14[a]	17.03±0.32[a]
chloroform	99.5	11.67±0.09[a]	18.34±0.33[a]
methanol	99.9	11.65±0.22[a]	18.06±0.35[a]
colchicine	0.5	11.25±0.29[a]	17.30±0.24[a]
	1.0	11.11±0.36[a]	17.83±0.53[a]
	2.0	10.97±0.33[a]	17.46±0.86[a]
	5.0	11.61±0.17[a]	16.94±0.09[a]

n = 10, mean±SE

เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$)

8. ผลของแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลชิซีน ต่อน้ำหนักแห้งเมล็ด และปริมาณผลผลิตต่อต้นต่อปี ของต้นสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก

น้ำหนักแห้งของเมล็ดสบู่ดำต้นควบคุม เท่ากับ 52.05±0.15 กรัมต่อ 100 เมล็ด การทรีตด้วยคลอโรฟอร์ม และโคลชิซีน เข้มข้น 2.0 % มีน้ำหนักแห้งของเมล็ด (57.90±0.30 และ 59.80±0.40 กรัมต่อ 100 เมล็ด ตามลำดับ) มากกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน น้ำหนักแห้งของเมล็ด (45.10±0.60 กรัมต่อ 100 เมล็ด) น้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการทรีตด้วยเมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 และ 2:0 % มีน้ำหนักแห้งของเมล็ด (51.80±1.30 52.40±0.80 52.90±2.30 และ 49.70±0.90 กรัมต่อ 100 เมล็ด ตามลำดับ) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นควบคุม ดังแสดงในตาราง 11

ผลผลิต ต่อต้น ต่อปี ของสบู่ดำต้นควบคุม เท่ากับ 350.30±18.78 กรัม การทรีตสารคลอโรฟอร์ม และโคลชิซีน เข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 % มีผลผลิตต่อต้นต่อปี (342.48±146.20 143.63±29.43 138.19±64.54 และ 151.38±126.92 กรัม ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกับต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตตตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน เมทานอล และโคลชิซีน เข้มข้น 5.0 % มีผลผลิตต่อต้นต่อปี (32.93±6.32 102.74±30.51 และ 91.24±49.92 กรัม) น้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 11

ตาราง 11 แสดงน้ำหนักแห้งเมล็ด และปริมาณผลผลิตต่อต้นต่อปี ของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	น้ำหนักแห้งเมล็ด* (กรัม/100 เมล็ด)	ผลผลิตต่อต้นต่อปี** (กรัม)
control	-	52.05±0.15^{b}	350.30±18.78^{a}
alpha-bromonaphthalene	อิ่มตัว	45.10±0.60^{c}	32.93±6.32^{b}
chloroform	99.5	57.90±0.30^{a}	342.48±146.20^{a}
methanol	99.9	51.80±1.30^{b}	102.74±30.51^{b}
colchicine	0.5	52.40±0.80^{b}	143.63±29.43^{ab}
	1.0	52.90±2.30^{b}	138.19±64.54^{ab}
	2.0	59.80±0.40^{a}	151.38±126.92^{ab}
	5.0	49.70±0.90^{b}	91.24±49.92^{b}

**n = 3, ***n= 2, mean±SE

เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$)

ผลของแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน ต่อปริมาณ และองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก

1. ปริมาณน้ำมันในเมล็ดสบู่ดำ

จากการสกัดน้ำมันจากเนื้อในเมล็ดสบู่ดำด้วยเฮกเซน โดยใช้เครื่องซอกห์เลต พบว่าปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากต้นควบคุม เท่ากับ 3.85±0.18 มิลลิลิตรต่อ 10 กรัมน้ำหนักแห้ง การทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟทาลีน มีปริมาณน้ำมัน (5.55±0.75 มิลลิลิตรต่อ 10 กรัมน้ำหนักแห้ง) สูงกว่าต้นควบคุม 44.16 % โดยมีความแตกต่างกับต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทรีตด้วยสารคลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน เข้มข้นต่างๆ มีปริมาณน้ำมัน 3.55±0.45 - 4.45±0.35 มิลลิลิตรต่อ 10 กรัมน้ำหนักแห้ง ไม่แตกต่างกับต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 12

ตาราง 12 แสดงปริมาณน้ำมัน ของสบู่ดำสายพันธุ์พิษณุโลก ที่ทรีตด้วยสารแอลฟา-โบรโมแนฟธาลีน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และโคลซิซีน

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	ปริมาณน้ำมัน (ml/10g)
control	-	3.85±0.18[b]
alpha-bromonaphthalene	อิ่มตัว	5.55±0.75[a]
chloroform	99.5	3.88±0.32[b]
methanol	99.9	3.55±0.45[b]
colchicine	0.5	4.10±0.10[b]
	1.0	3.95±0.15[b]
	2.0	4.45±0.05[ab]
	5.0	4.45±0.35[ab]

n = 2, mean±SE

เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี DMRT ($P \leq 0.05$)

2. ผลการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันสบู่ดำ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันสบู่ดำ พบว่า น้ำมันที่สกัดจากสบู่ดำต้นควบคุมสายพันธุ์พิษณุโลก และทรีตด้วยแอลฟา-โบรโมแนฟทาลีน และคลอโรฟอร์ม มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบหลัก ปริมาณร้อยละ 78.61 78.77 และ 77.58 ตามลำดับ โดยมีกรดโอเลอิกในปริมาณร้อยละ 46.09 49.39 และ 51.14 ตามลำดับ และกรดลีโนเลอิกร้อยละ 31.54 28.48 และ 25.41 ตามลำดับ และกรดไขมันอิ่มตัวร้อยละ 21.38 21.23 และ 22.41 ตามลำดับ ซึ่งประกอบด้วยกรดปาล์มิติกร้อยละ 14.19 13.42 และ 13.87 ตามลำดับ และกรดสเตียริกร้อยละ 6.67 7.36 และ 7.95 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการทรีตสารแอลฟา-โบรโมแนฟทาลีน และคลอโรฟอร์ม มีผลทำให้ปริมาณของกรดโอเลอิก และกรดสเตียริก เพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณกรดลีโนเลอิก และกรดปาล์มิติก ลดลง และปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated) สูงกว่าต้นควบคุม ดังแสดงในตาราง 13

ตาราง 13 แสดงองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันสบู่ดำต้นควบคุมสายพันธุ์พิษณุโลก และที่ทรีตด้วย แอลฟา-โบรโมแนฟทาลีน และคลอโรฟอร์ม

กรดไขมัน	ปริมาณกรดไขมันในสบู่ดำ (%)		
	ต้นควบคุม	แอลฟา-โบรโมแนฟทาลีน	คลอโรฟอร์ม
Palmitolenic (16:1)	0.70	0.62	0.72
Oleic (18:1)	46.09	49.39	51.14
Elcosenoic (20:1)	0.06	0.07	0.07
Linoleic (18:2)	31.54	28.48	25.41
Linolenic (18:3)	0.22	0.21	0.24
Myristic (14:0)	0.05	0.05	0.05
Palmitic (16:0)	14.19	13.42	13.87
Heptadecanoic (17:0)	0.09	0.10	0.10
Stearic (18:0)	6.67	7.36	7.95
Arachidic (20:0)	0.20	0.22	0.27
Behenic (22:0)	0.03	0.03	0.06
Tricosanoic (23:0)	0.02	0.01	0.03
Lignoceric (24:0)	0.04	0.04	0.06
Saturated	21.38	21.23	22.41
Unsaturated	78.61	78.77	77.58
Monounsaturated	46.85	50.08	51.93
Polyunsaturated	31.76	28.69	25.65